

Title	マウスES細胞の分化過程におけるInscuteable遺伝子の発現制御機構の解析(Abstract_要旨)
Author(s)	石橋, 理基
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2016-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k19872
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（生命科学）	氏名	石橋 理基
論文題目	マウスES細胞の分化過程における <i>Inscuteable</i> 遺伝子の発現制御機構の解析		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>ショウジョウバエにおいて同定された非対称分裂制御因子 <i>Inscuteable</i> (<i>Insc</i>) は、様々な幹細胞の運命決定を制御することが知られている。哺乳類では、ホモログである <i>mInsc</i> の発現量によって幹細胞の対称・非対称分裂の振り分けが調節されることが報告されている。しかし、<i>mInsc</i> 遺伝子の発現制御機構についてはこれまで研究がなされていなかった。本研究では、マウスES細胞の中胚葉と内胚葉への分化過程において、<i>mInsc</i> 遺伝子が一過的に発現することを見出した。また、<i>mInsc</i> 遺伝子の発現を制御する最小転写調節領域として、<i>mInsc</i> 遺伝子転写開始点約5kb上流に存在する354塩基配列を同定した。さらに、転写因子 <i>c-Rel</i> が最小転写調節領域に結合し、<i>mInsc</i> 遺伝子の転写調節を行っていることを明らかにした。次に、マウスES細胞の分化における <i>c-Rel</i> ならびに <i>mInsc</i> の関与について検討した結果、どちらも中内胚葉ならびに内胚葉への分化には必須ではないが、中胚葉への分化を促進することが分かった。また、<i>c-Rel</i> ノックダウンによるES細胞の中胚葉分化抑制は、<i>mInsc</i> の過剰発現によりレスキューされたことから、<i>c-Rel</i> 依存的な <i>mInsc</i> 遺伝子の発現が、ES細胞の中胚葉への運命決定に重要であることが示された。さらに、ES細胞の分化における非対称分裂の関与を検証した。その結果、極性因子 <i>Par-3</i> の細胞頂端部への局在や、紡錘体配向制御因子 <i>LGN</i> の非対称局在は観察されたが、<i>mInsc</i> の非対称な局在は観察されなかった。また、免疫沈降法により、<i>mInsc</i> と <i>LGN</i> の結合は観察されたが、<i>mInsc</i> と <i>Par-3</i> の結合は観察されなかった。さらに、<i>Par-3</i> や <i>LGN</i> を siRNA を用いてノックダウンしても、ES細胞の中胚葉及び内胚葉への分化に大きな影響は見られなかった。以上の結果から、<i>mInsc</i> によるES細胞の分化制御は、非対称分裂に非依存的であることが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

Inscuteable (Insc) は、ショウジョウバエから哺乳類まで進化的に保存された非対称分裂制御因子であり、その発現量のバランスによって、幹細胞の自己複製や分化細胞の産生数が制御されることが知られている。しかし、*Insc* 遺伝子の発現制御機構については不明であった。

本論文は、マウスES細胞を中胚葉と内胚葉に分化させる培養系を用いて、*mInsc*遺伝子発現制御機構ならびにES細胞分化における*mInsc*の機能を明らかにしたものである。まず、ES細胞の中胚葉と内胚葉への分化時に*mInsc*遺伝子が一過的に発現することを見出した。そこで、この遺伝子発現を制御する領域の探索を行った結果、*mInsc*遺伝子の転写開始点から約5kb上流に存在する354bpから成る最小転写調節領域を同定した。また、TRANSFAC®のMatchプログラムを使用し候補転写因子の絞り込みを行い、転写因子結合配列への変異導入実験、siRNAを用いたノックダウン実験、及びChIP-qPCR解析を行った結果、c-Relが*mInsc*の遺伝子発現を制御していることを明らかにした。また、c-Rel及び*mInsc*遺伝子のsiRNAによるノックダウン解析により、c-Relと*mInsc*は、ES細胞の中胚葉分化を促進することを明らかにした。さらに、c-RelノックダウンによるES細胞の中胚葉分化抑制は、*mInsc*の過剰発現によりレスキューできることを示した。最後に、ES細胞分化における*mInsc*依存的な非対称分裂の関与について検討を行った。その結果、極性タンパク質Par-3の細胞頂端部への濃縮や、紡錘体配向制御因子LGNの細胞表層における非対称局在は観察されたが、*mInsc*の非対称な局在は観察されなかった。また、ES細胞分化時において、*mInsc*とLGNとの結合は認められたが、Par-3との結合は認められなかった。また、LGN及びPar-3のノックダウンを行っても、中胚葉と内胚葉の分化に大きな影響は見られなかった。これらの結果より、*mInsc*のES細胞分化制御は非対称分裂に非依存적である可能性が示唆された。

本論文は、*mInsc*遺伝子の発現調節領域を同定し、c-Relによる*mInsc*遺伝子の発現を介したES細胞の中胚葉運命決定機構の存在を初めて提唱したものである。幹細胞研究の発展に寄与する重要な論文であるため、本論文を博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

平成28年1月25日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日